



TITLE:

Therapeutic angiogenesis by local sustained release of microRNA-126 using poly lactic-co-glycolic acid nanoparticles in murine hindlimb ischemia(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Tsumaru, Shinichi

CITATION:

Tsumaru, Shinichi. Therapeutic angiogenesis by local sustained release of microRNA-126 using poly lactic-co-glycolic acid nanoparticles in murine hindlimb ischemia. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21003>

RIGHT:

DOI: 10.1016/j.jvs.2017.08.097

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	津 丸 真 一
論文題目	Therapeutic angiogenesis by local sustained release of microRNA-126 using poly lactic-co-glycolic acid nanoparticles in murine hindlimb ischemia (マウス下肢虚血におけるポリ乳酸-グリコール酸共重合体ナノ粒子を用いた microRNA-126 の局所徐放による治療的血管新生)		
(論文内容の要旨)			
<p>近年、microRNA(miRNA; miR)と呼ばれるノンコーディング small RNA が、多くの生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。さらに、miRNA は心血管疾患を含めた様々な疾患においても関与しており、miRNA をターゲットとした治療的介入の有効性が検討されている。miRNA を用いた治療は、遺伝子治療であるため、標的組織にいかに効率良く miRNA を導入するかが重要である。現在、miRNA は多くの種類が同定されているが、その中で miR-126 は vascular endothelial growth factor (VEGF) の内在性抑制因子である Sprouty related EVH1 domain containing protein 1 (SPRED1) を抑制することによって血管新生を促進することが報告され、着目されている。</p> <p>本研究は、マウス下肢虚血モデルを用いて、poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) ナノ粒子を徐放担体とした miR-126 投与による SPRED1 抑制効果および血管新生効果について検討することを目的とした。</p> <p>10 週齢の C57BL/6J マウスを用いて、腹腔内麻酔で左大腿動脈を全長にわたり切除して下肢虚血モデルを作製した。投与は、虚血作製直後に虚血側大腿筋への分割注入にて行った。比較は sham 群（生理食塩水投与）、contRNA 群（scrambled miR 封入 PLGA ナノ粒子投与）、miR-126 群(miR-126 封入 PLGA ナノ粒子投与)にて行った。</p> <p>miRNA の投与量決定目的で、high dose と low dose に分けてレーザードップラー灌流測定による下肢血流評価を行った結果、miR-126 群の high dose で投与 14 日目において有意な血流改善を認めた。組織学的評価においても、miR-126 群で CD31 陽性細胞およびα-SMA 陽性血管が有意に増加しており、血管新生が示された。</p> <p>また、qRT-PCR の結果、miR-126 群において、miR-126 の発現レベルが有意に上昇しており、投与した組織における miR-126 の導入効果が示唆された。さらに miR-126 群において、SPRED1 の mRNA 発現レベルが有意に抑制されており、miR-126 による抑制効果が示唆された。Western Blotting の結果からは、miR-126 投与群で、pERK/ERK の有意な上昇を認め、VEGF シグナル経路における ERK の活性が促進されていた。</p> <p>以上から、miR-126 封入 PLGA ナノ粒子による局所徐放投与は、miR-126 を効率的に局所に導入し、VEGF シグナル経路における SPRED1 の抑制および ERK 活性を促進した。その結果、血管新生効果を示し、下肢血流改善へつながったものと考えられ、miR-126 封入 PLGA ナノ粒子による局所徐放投与は重症下肢虚血患者に対する有用な治療手段となりうる可能性が示唆された。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>microRNA(miRNA; miR)と呼ばれるノンコーディング short RNA は、心血管疾患を含めた多くの生物学的過程に関与しており、miRNA をターゲットとした治療的介入の有効性が動物実験において報告されている。miRNA は血管新生にも関わっており、その中で miR-126 は、vascular endothelial growth factor (VEGF) の内在性抑制因子である Sprouty related EVH1 domain containing protein 1 (SPRED1) を抑制することによって血管新生を促進することが報告されている。本研究は、マウス下肢虚血モデルを用いて、poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) ナノ粒子を徐放担体とした miR-126 投与による血管新生効果について検討した。</p> <p>マウス下肢虚血モデルを作製後に miR-126 封入 PLGA ナノ粒子投与を行ったところ、投与 14 日目において有意な下肢血流改善を認めた（レーザードップラー血流測定（コントロール群 vs 治療群: 0.58±0.05 vs 0.72±0.07（対非虚血肢比）, P<0.001））。組織学的評価においても、治療群において CD31 陽性血管内皮細胞およびα-SMA 陽性血管が有意に増加しており、血管新生が示された。また、miR-126 遺伝子発現レベルが治療群において 3 日目、7 日目と有意に上昇し、それに伴う SPRED1 遺伝子発現レベルおよびタンパク発現レベルの有意な抑制を認めた。この結果から miR-126 の局所投与における有効な導入が示された。さらに、VEGF シグナル経路におけるリン酸化 ERK のタンパク発現レベルの有意な上昇を認め、SPRED1 の発現抑制による ERK 経路の活性化が血管新生を促進させたということが示唆された。</p> <p>以上から、PLGA ナノ粒子を用いた miR-126 の局所徐放は、下肢虚血に対する効果的な治療手段となり得る可能性がある。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 1 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			